

BAB III

MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Teknologi Hasil Ternak fakultas Peternakan universitas Brawijaya. Masa pengerjaan penelitian ini adalah selama tiga bulan. Bulan pertama dimulai tanggal 11 September hingga 9 Oktober 2017 dengan agenda kegiatan berupa persiapan materi penelitian. Bulan kedua dimulai tanggal 16 Oktober hingga 13 November 2017 dengan agenda kegiatan berupa percobaan sebelum penelitian. Bulan ketiga dimulai tanggal 20 November hingga 11 Desember 2017 dengan agenda penelitian dan pengumpulan data.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Materi

Materi yang digunakan dalam penelitian adalah larutan katekin kulit kakao. Larutan katekin kulit kakao dibuat menggunakan bahan kimia komersial berupa bubuk katekin (43412 Sigma-Aldrich). 43412 Sigma-Aldrich merupakan bubuk katekin kulit kakao komersial yang mengandung 0,96 g/g (96%) senyawa katekin. Pembuatan larutan katekin kulit kakao menggunakan metode Subagja dkk., (2009) dengan sedikit modifikasi. 1,5 gram bubuk katekin kulit kakao (43412 Sigma-Aldrich) dilarutkan dalam 1.000 mL larutan penyangga pH 6,8. Konsentrasi larutan katekin yang terbentuk adalah 1.500 µgram/mL. Dihomogenkan menggunakan pengaduk magnet (Nouvo II) selama 1 menit. Larutan ini kemudian disimpan pada lemari pendingin bersuhu 4°C jika tidak

langsung digunakan dalam penelitian. Larutan ini berfungsi sebagai larutan induk. Penggunaan larutan ini adalah dengan cara mengambil larutan induk sebanyak 1 mL (P_1) dan 2 mL (P_2), kemudian diencerkan dengan penambahan 49 mL (P_1) dan 48 mL (P_2) larutan penyangga pH 6,8 sehingga mencapai konsentrasi sebesar 30 (P_1) dan 60 (P_2) μ gram/mL (b/v).

3.2.2. Bahan

Bahan kimia yang digunakan adalah bahan kimia komersial meliputi bubuk bubuk katekin (43412 Sigma-Aldrich), bubuk kasein komersial (*Muscle Feastindo*), larutan penyangga pH 6.8 (K.M. DeAngelis), minyak kedelai (Mama Suka) dan akuades (Makmur Sejati).

3.2.3. Alat

Peralatan yang digunakan adalah neraca analitik (HR-300), pengaduk magnet (Nouvo II), gelas kimia (Duncant), gelas ukur (Pyrex), pisau dapur, *microwave oven* domestik (Sharp), *surface grinder* (Harig), blender (Phillips), Toples (*Tupperware*), oven, sendok aluminium, kertas saring (Whatman), spektrofotometer (uv-1201v, Shimadzu), mikroskop cahaya (Olympus), mikro pipet (Thermo Fisher) dan *handmixer* (BOSCH).

3.3. Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode percobaan laboratorium dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) tiga perlakuan dan masing-masing perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan analisis ragam untuk mengetahui adanya

pengaruh perlakuan terhadap sifat emulsi dan buih kasein. Perlakuan dalam penelitian ini adalah penambahan larutan katekin dengan konsentrasi yang berbeda, yaitu P_0 (0 $\mu\text{g/ml}$), P_1 (30 $\mu\text{g/ml}$) dan P_2 (60 $\mu\text{g/ml}$) pada larutan kasein. Perlakuan yang diujikan disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan yang diujikan dalam penelitian

Perlakuan	Ulangan		
	U_1	U_2	U_3
P_0	P_0U_1	P_0U_2	P_0U_3
P_1	P_1U_1	P_1U_2	P_1U_3
P_2	P_2U_1	P_2U_2	P_2U_3

3.4. Tahapan Penelitian

3.4.1. Pembuatan Larutan Kasein

Pembuatan larutan kasein dilakukan dengan menghitung berat kasein menggunakan metode Lazzaro *et al.*, (2017) yang mengalami sedikit modifikasi. Bubuk kasein ditimbang menggunakan neraca analitik hingga mencapai 2,5 gram. 2,5 gram bubuk kasein ditambahkan ke dalam gelas kimia berisi 50 mL larutan penyangga pH 6,8. Dihomogenkan menggunakan pengaduk magnet (Nouvo II) selama 1 menit. Larutan kasein disimpan dalam lemari pendingin bersuhu 4°C apabila tidak langsung digunakan.

3.4.2. Penentuan Sifat Emulsi

Penentuan sifat emulsi dilakukan dengan menghitung indeks aktifitas emulsi (IAE) dan indeks stabilitas emulsi (ISE) berdasarkan tingkat kekeruhan emulsi yang diukur menggunakan spektrofotometer dan pendeskripsian emulsi mikroskopis. Nilai absorbansi hasil spektrofotometer digunakan untuk menghitung indeks aktifitas dan indeks stabilitas emulsi. Pembuatan emulsi dilakukan dengan menggunakan metode Lazzaro *et al.*, (2017) yang mengalami sedikit modifikasi. Emulsi dibuat dengan cara mencampurkan larutan kasein dan larutan katekin hingga mencapai volume 100 mL. Larutan katekin ditambahkan pada berbagai taraf konsentrasi, sehingga campuran yang dihasilkan memiliki komposisi larutan kasein 0,05 gram/mL dan larutan katekin 0; 30; dan 60 µgram/mL (b/v). Campuran dihomogenasi menggunakan pengaduk magnet selama 10 menit, setelah itu diambil 19,96 mL untuk dijadikan sampel dalam perhitungan IAE dan ISE.

3.4.3. Perhitungan Indeks Aktifitas Emulsi

Indeks aktifitas emulsi (IAE) ditentukan dengan menggunakan metode Sablovic *et al.*, (2013) dengan sedikit modifikasi. Minyak kedelai (0,04 mL) dan campuran larutan kasein-katekin (19,96 mL) dihomogenisasi selama 1 menit. Nilai absorbansi emulsi diukur menggunakan spektrofotometer (uv-1201v, Shimadzu) pada panjang gelombang 500 nm dalam 0,01 m *path length* cuvette. Perhitungan IAE dilakukan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$IAE = 2 \times 2,303 \times \frac{A}{r} \left(\frac{A \times r}{C \times \varnothing \times 10.000} \right)$$

Dimana: A = nilai absorbansi pada panjang gelombang 500 nm, $r = \text{path length cuvette (m)}$, C = berat kasein per satuan volume (2,5 gram/50 mL) yang berasal dari larutan kasein sebelum terbentuk emulsi, dan \emptyset = volume fraksi minyak dalam emulsi (0,04 mL/20 mL).

3.4.4. Perhitungan Indeks Stabilitas Emulsi

Perhitungan indeks stabilitas emulsi (ISE) dilakukan menggunakan metode Rahayu *et al.*, (2015) yang mengalami sedikit modifikasi. Minyak kedelai (0,04 mL) dan larutan campuran kasein-katekin (19,96 mL) dihomogenisasi selama 1 menit. Disiapkan sampel untuk absorbansi menit ke 0 dan menit ke 10. Indeks stabilitas emulsi (ISE) ditentukan dengan mengukur nilai absorbansi setelah 10 menit. Perhitungan ISE dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$ISE = \frac{A_{10}}{A_0} \times 100\%$$

Di mana: A_0 = nilai absorbansi pada panjang gelombang 500nm pada 0 menit, A_{10} = nilai absorbansi pada panjang gelombang 500 nm pada menit ke 10.

3.4.5. Penentuan emulsi mikroskopis

Penentuan emulsi mikroskopis merupakan penampilan emulsi yang dideskripsikan menggunakan metode Rahayu *et al.*, (2015) dengan sedikit modifikasi. Minyak kedelai (0,04 mL) dan campuran larutan kasein-katekin (19,96 mL) dihomogenisasi selama 1 menit. Emulsi yang terbentuk diamati menggunakan mikroskop cahaya (Olympus) dengan perbesaran 400 kali untuk mengetahui penampakan globula emulsinya.

3.4.6. Penentuan Sifat Buih

Penentuan sifat buih dilakukan dengan menggunakan metode Awwaly dkk., (2015) yang mengalami sedikit modifikasi. Buih dibuat dengan cara mencampurkan larutan kasein dan larutan katekin hingga mencapai volume 100 mL. Larutan katekin ditambahkan pada berbagai taraf konsentrasi, sehingga campuran yang dihasilkan memiliki komposisi larutan kasein 0,05 gram/mL dan larutan katekin 0; 30; dan 60 µgram/mL (b/v). Campuran dihomogenasi menggunakan pengaduk magnet selama 10 menit. Diambil 50 mL larutan campuran tersebut dan dicatat sebagai volume awal. Larutan campuran tersebut dihomogenisasi kembali menggunakan *handmixer* (BOSCH) selama 1 menit pada suhu ruang. Dicatat volume larutan campuran setelah dihomogenisasi menggunakan *handmixer* (BOSCH) sebagai volum akhir. Penentuan sifat buih dilakukan dengan menghitung daya buih (DB) menggunakan rumus:

$$DB = 100 \times \frac{V_f - V_i}{V_i}$$

3.4.7. Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam. Adapun model matematika untuk Rancangan Acak Lengkap adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

- Y_{ij} : Peubah respon karena pengaruh perlakuan ke i ulangan ke j
 μ ; Nilai tengah umum
 τ_i ; Pengaruh perlakuan ke i
 ε_{ij} ; Galat dari perlakuan ke i ulangan ke j
 i ; 1,2,3 perlakuan
 j ; 1,2,3 ulangan

3.4.8. Batasan Istilah

- Adhesi : Gaya tarik menarik antar molekul heterogen
- Antarmuka : Wilayah fase kontinyu yang kontak dengan fase terdispersi
- Aktifitas Emulsi : Kemampuan kasein dalam membentuk emulsi yang dinyatakan dalam indeks aktifitas emulsi
- Buih : Campuran antara gas sebagai fase terdispersi dan cair sebagai fase pendispersi
- Daya Buih : Kemampuan kasein dalam menghasilkan buih
- Dispersi : Distribusi partikel dalam medium pendispersi

Diskret	: Partikel yang berdiri sendiri
Emulsi	: Campuran antara cairan sebagai fase terdispersi dan cairan sebagai fase pendispersi, di mana kedua cairan ini tidak saling melarutkan
Emulsi Mikroskopis	: Penampilan globula emulsi yang diamati menggunakan mikroskop cahaya
Homogen	: Partikel terdispersi tidak terpengaruh oleh gaya gravitasi yang dikenakan kepadanya sehingga tidak terjadi pengendapan
Hidrofob	: Sifat larut dalam pelarut non polar
Hidrofil	: Sifat larut dalam pelarut polar
Kohesi	: Gaya tarik menarik antar molekul homogen
Koloid	: Suatu sistem dispersi dua atau lebih zat yang bersifat homogen berukuran partikel terdispersi (1-1000 nm)
Konsentrasi	: Pengukuran jumlah zat terlarut yang larut dalam zat pelarut
Misel	: Kumpulan rantai karbon (R) dengan ujung yang bersifat hidrofil
Permukaan	: Pemisah antara gas dengan cairan atau padatan
Stabilitas Emulsi	: Kemampuan kasein dalam menstabilkan emulsi yang dinyatakan dalam indeks stabilitas emulsi

